

Sebaran Nematoda Sista Kentang di Wonosobo dan Banjarnegara, Jawa Tengah

Distribution of Potato Cyst Nematode in Wonosobo and Banjarnegara, Central Java

Dani Sutanta Syafi'i, Lisnawita*, Hasanudin
 Universitas Sumatera Utara, Medan 20155

ABSTRAK

Nematoda sista kentang (NSK), *Globodera* spp. merupakan patogen utama yang menginfeksi tanaman kentang dan sudah tersebar luas di dunia. Penelitian ini bertujuan menetapkan sebaran geografi dan spesies NSK yang menginfeksi tanaman kentang di Kabupaten Wonosobo dan Banjarnegara, Jawa Tengah melalui survei, pendekatan morfologi dan molekul. Karakter morfologi yang diamati di antaranya sista (diameter fenestra, jarak anus ke fenestra, dan rasio granek), telur (panjang dan lebar telur), dan juvenil 2 (J2) (panjang dan lebar tubuh, panjang dan lebar kepala, panjang stilet, tipe knob, serta panjang ekor). Identifikasi molekul menggunakan teknik PCR berdasarkan pada amplifikasi daerah internal transcribed spacers dengan primer spesifik spesies *Globodera rostochiensis* PITSr3, primer spesifik *G. pallida* PITSp4, dan primer universal nematoda ITS5. Sebanyak 5 isolat NSK dari Wonosobo dan 7 isolat dari Banjarnegara digunakan dalam penelitian ini. Hasil analisis berdasarkan karakter morfologi dan molekul semua isolat diidentifikasi sebagai *G. rostochiensis*.

Kata kunci : *Globodera rostochiensis*, identifikasi molekul, karakter morfologi, PCR

ABSTRACT

Potato cyst nematode (PCN), *Globodera* spp., is the primary pathogens that infect potato plants and has been distributed world wide. This study aimed to determine the geographic distribution and species of PCN that infect potato plants in Wonosobo and Banjarnegara, Central Java through a survey, morphological and molecular approaches. Morphological characters were observed among cyst (fenestra diameter, distance from anus to the fenestra, and the Graneks ratio, eggs (length and width of eggs), and the juvenile stage 2 (J2) (length and width of the body, the length and width of the head, the length of the stylet, knob type, as well as the length of the tail). While the molecular identification by polymerase chain reaction is based on the amplification of the internal area transcribed spacers using *G. rostochiensis* PITSr3 specific primer, *G. pallida* PITSp4 specific primer and universal nematode primer ITS5. Twelve isolates of PCN, i.e. 5 isolates from Wonosobo and 7 isolates from Banjarnegara were used in this study. The results showed that all isolates were identified as single species, *G. rostochiensis*.

Key words: *Globodera rostochiensis*, morphology character, molecular identification, PCR

*Alamat penulis korespondensi: Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara. Jalan. Dr. A. Sofyan No.3, Padang Bulan, Medan, Sumatera Utara 20155.
 Tel: (061) 8213236, Surel : lisnawita@usu.ac.id.

PENDAHULUAN

Nematoda sista kentang (NSK) merupakan patogen penting pada tanaman kentang (*Solanum tuberosum*). Patogen ini telah menyebar luas dari Eropa ke daerah subtropika, seperti Pakistan, India, dan Filipina (Jatala dan Bridge 1990). Di Indonesia, NSK pertama kali ditemukan pada bulan Maret 2003 di Desa Tulungrejo, Kecamatan Bumiaji, Kota Batu, Malang, Jawa Timur (Indarti *et al.* 2004), selanjutnya NSK ditemukan di Jawa Tengah dan Jawa Barat. Lisnawita *et al.* (2012) telah mengidentifikasi secara molekul spesies nematoda di Jawa Timur dan Jawa Barat sebagai *Globodera rostochiensis*, sedangkan nematoda di Jawa Tengah teridentifikasi sebagai *G. rostochiensis* dan *G. pallida*.

Jawa Tengah sebagai salah satu sentra produksi kentang di Indonesia dengan luasan panen kentang terbesar, yaitu 17 630 ha menjadikan keberadaan NSK perlu diperhatikan secara serius. Spesies NSK yang ada di Jawa Tengah dilaporkan oleh Nurjanah *et al.* (2016) dan Lisnawita *et al.* (2012), namun masih banyak lokasi pertanaman kentang yang perlu dikonfirmasi. Informasi tentang spesies NSK penting untuk menentukan tindakan pengendalian yang tepat. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengidentifikasi NSK di Kabupaten Wonosobo dan Banjarnegara, Jawa Tengah melalui pendekatan morfologi, morfometri, dan molekul sehingga dapat melengkapi informasi yang ada untuk sebaran spesies NSK.

BAHAN DAN METODE

Survei dan Pengambilan Sampel

Survei dilakukan di 12 lokasi pertanaman kentang di Jawa Tengah, yaitu 5 lokasi di Kabupaten Wonosobo dan 7 lokasi di Kabupaten Banjarnegara (Tabel 1). Pemilihan lokasi sampel berdasarkan proporsi luas lahan pertanaman kentang dan ketinggian tempat antara 1500 dan 2100 m dpl. Sampel tanah dan akar diambil dengan metode *purposive random sampling* dari 5 titik di setiap lokasi. Sampel diambil dari tanaman yang diduga

terinfeksi NSK dengan ciri tanaman terlihat layu, menguning, dan tumbuh tidak normal. Ketika tanaman dicabut, pada perakarannya tampak sista berwarna putih kekuningan atau coklat kekuningan. Pengukuran suhu tanah dilakukan untuk setiap sampel yang diambil.

Sampel tanah dari setiap lokasi dikompositkan, dimasukkan ke dalam kantong plastik dan diberi label nama petani, lokasi, tanggal koleksi, dan titik koordinat. Sampel dimasukkan ke dalam kotak pendingin dan disimpan di laboratorium untuk proses selanjutnya.

Sebanyak 100 mL tanah dari setiap sampel diekstraksi dengan metode penyaringan (840 dan 250 mesh) (Shepherd 1985), sedangkan 10 g sampel akar dicuci menggunakan air mengalir dan dikeringanginkan. Selanjutnya sista pada tanah dan akar dari setiap sampel dikumpulkan dengan menggunakan pinset atau jarum preparat, dan disimpan dalam tabung eppendorf pada suhu ruang.

Karakter Morfologi dan Morfometri

Hanya isolat C6 (Desa Dieng, Kabupaten Banjarnegara) digunakan untuk pengamatan karakter morfologi dan morfometri, karena jumlahnya mencukupi. NSK lain tidak diidentifikasi secara morfologi dan morfometri karena kepadatan populasinya rendah. Nematoda ini digunakan untuk analisis molekul saja. Identifikasi dilakukan dengan mengambil 25 sista secara acak (Lisnawita *et al.* 2007) dari sampel C6. Selanjutnya bagian posterior sista dipotong, telur dan juvenil yang ada di dalamnya dibersihkan menggunakan jarum pancing nematoda secara hati-hati. Potongan dibuat preparat perinial ke atas objek dengan larutan Hoyer (30 g gum arab, 200 g kloral hidrat, 16 g gliserol, dan 200 mL aquades). Diameter fenestra, jarak anus ke fenestra, dan nisbah granek (jarak antara fenestra dan anus dibagi dengan diameter fenestra) diukur. Pengamatan telur dan juvenil stadium ke-2 (J2) dilakukan pada preparat dengan medium laktofenol biru. Telur diukur panjang dan lebarnya ($n = 50$), sedangkan J2 ($n = 50$) diukur panjang dan lebar tubuh, panjang dan lebar kepala, panjang stilet, tipe

knob, serta panjang ekor (Lisnawita *et al.* 2007). Semua objek diamati menggunakan mikroskop majemuk (Olympus CX21) dengan perbesaran 1000× (untuk pola perinial, juvenil, dan telur) dan 400× (untuk sista).

Pengukuran karakter morfometri dilakukan menggunakan mikrometer okuler dan mikrometer objektif, dengan rumus seperti yang dideskripsikan oleh Adili *et al.* (2014). Hasil perhitungan dikonfirmasi menggunakan kunci determinasi spesies NSK (Fleming dan Powers 1998).

Identifikasi Spesies NSK berdasarkan Karakter Molekul

Identifikasi spesies NSK berdasarkan karakter molekul dilakukan pada 12 isolat NSK yang ada, dengan tahapan sebagai berikut:

Ekstraksi DNA. Metode ekstraksi DNA mengikuti Fullaondo *et al.* (1999) dan Subbotin *et al.* (2001) yang telah dimodifikasi tanpa menggunakan fenol-kloroform isoamil alkohol. Sebanyak 25 sista dikumpulkan secara acak dari setiap sampel, kemudian dimasukkan ke dalam eppendorf steril yang berisi bufer lisis 150 µL (KCl 125 mM; Tris-HCl 25 mM, pH 8.0; MgCl₂ 3.75 mM; DTT 2.5 mM; Tween 20 1.125%, dan gelatin 0.025%) dan ditambahi 5 µL proteinase K (600 µg L⁻¹—USB, UK), kemudian digerus selama 2–3 menit. Sampel divorteks dan diinkubasi pada suhu 65 °C selama 1 jam, dilanjutkan inkubasi pada suhu 95 °C selama 10 menit, setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 11 000 rpm selama 10 menit. Supernatan dipindahkan ke tabung baru dan ditambahi 1 volume kloroform:isoamil alkohol (24:1), divorteks dan disentrifugasi dengan kecepatan 11 000 rpm selama 10 menit. Supernatan dipindahkan pada tabung baru dan ditambahi 2.5 volume total supernatan NAOAc 3 M (pH 5.2), kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu -20 °C. Setelah itu, tabung disentrifugasi dengan kecepatan 14 000 rpm selama 10 menit, lalu supernatan dibuang. Pelet dicuci dengan 500 µL etanol 70% dan disentrifugasi dengan kecepatan 14 000 rpm selama 10 menit. Etanol dibuang, pelet diambil dan dikeringkan dalam vakum,

kemudian diresuspensi dengan 20 µL air steril (ddH₂O). DNA hasil ekstraksi diamplifikasi dengan teknik PCR berdasarkan metode Fullaondo *et al.* (1999).

Setiap reaksi PCR (25 µL) terdiri atas 25 ng DNA templat dari masing-masing sampel, bufer lisis Tris-HCl 50 mM (pH 9.0); KCl 50 mM; MgCl₂ 1.5 mM; Triton X-100 0.1%; 0.2 mM setiap dNTP (New England Biolabs); 50 ng setiap primer; dan 0.5 unit Taq polymerase (New England Biolabs). Amplifikasi menggunakan primer spesifik spesies, PITSr3 (5'- AGC GCA GAC ATG CCG CAA -3') untuk *G. rostochiensis* (ukuran produk PCR 434 pb) dan PITSp4 (5'- ACA ACA GCA ATC GTC GAG -3') untuk *G. pallida* (ukuran produk PCR 265 pb) (Bulman dan Marshall 1997). Keduanya dikombinasikan dengan primer universal nematoda ITS5 (5'- GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3') (White *et al.* 1990).

Amplifikasi DNA dilakukan dengan denaturasi awal pada 94 °C selama 2 menit, kemudian dilanjutkan dengan 35 siklus melalui 3 tahapan, yaitu pemisahan utas DNA pada 94 °C selama 30 detik, penempelan primer pada suhu 60 °C selama 30 detik, dan sintesis DNA pada 72 °C selama 30 detik. Khusus untuk siklus terakhir ditambah tahapan sintesis selama 7 menit, kemudian siklus berakhir pada suhu 4 °C.

Elektroforesis. Sebanyak 5 µL produk PCR dianalisis dengan elektroforesis pada gel agarosa 1.2% dalam bufer trisborat EDTA (TBE) 1× dengan tegangan 75 volt selama 45 menit (Subbotin *et al.* 2001) dan diamati dengan UV transiluminator setelah diberi warna menggunakan etidium bromida.

HASIL

Sebaran NSK di Kabupaten Wonosobo dan Banjarnegara

Sentra pertanaman kentang di Kabupaten Wonosobo dan Banjarnegara, Jawa Tengah telah diserang oleh NSK. NSK ditemukan pada ketinggian mulai dari 1577 sampai 2047 m dpl dengan suhu tanah berkisar antara 15–24 °C (Tabel 1). Nematoda ini menyerang semua

kultivar kentang yang ditanam petani di lapangan, yaitu kultivar Granola dan Granola MZ (hasil persilangan Granola lokal dan Granola asal Jerman) (Tabel 1).

Tanaman yang terinfeksi NSK di lapangan menunjukkan gejala yang sama dengan gejala serangan nematoda pada umumnya. Infeksi NSK pada fase vegetatif dengan tingkat populasi yang tinggi mengakibatkan pertumbuhan tanaman terhambat (kerdil), kekuningan, layu, dan nekrosis (Gambar 1a dan 1b); sedangkan pada fase generatif, infeksi NSK dapat mengakibatkan umbi yang dihasilkan berukuran kecil dan apabila tanaman dicabut, akan terlihat sista yang menempel (Gambar 1c), kadang-kadang sista dapat dilihat pada permukaan umbi.

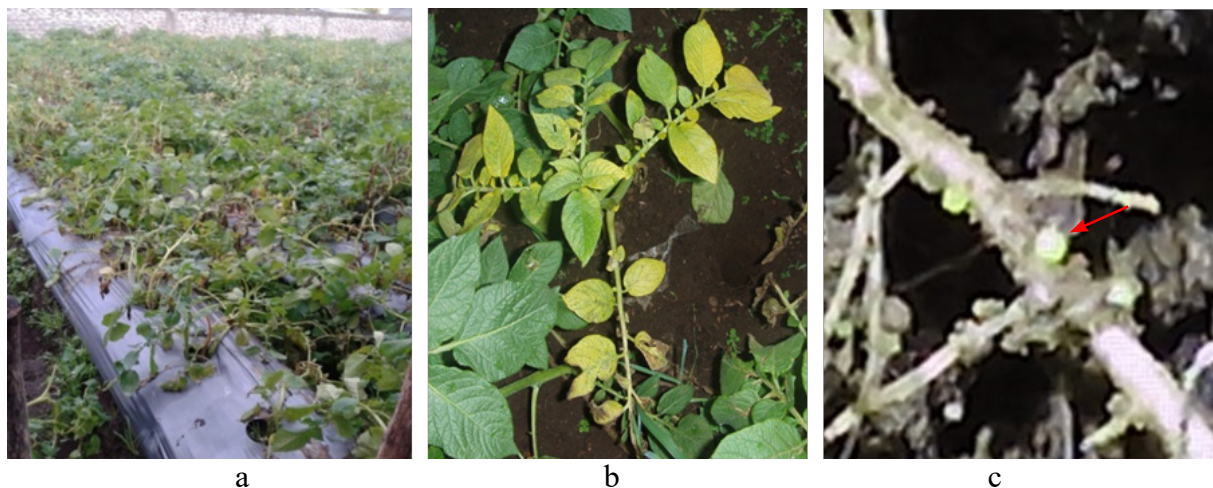
Hasil ekstraksi-isolasi NSK dari tanah dan akar, didapat kepadatan populasi NSK bervariasi di setiap lokasi pengambilan sampel (Tabel 1). Populasi NSK tertinggi di Kabupaten Banjarnegara terdapat di Desa Dieng, sedangkan di Kabupaten Wonosobo terdapat di Desa Patak Banteng, masing-masing sebanyak 131 dan 100 sista. Sebaliknya populasi NSK terendah ialah di Desa Ratamba, Kabupaten Banjarnegara dan Desa Suren Gede, Kabupaten Wonosobo.

Karakter Morfologi dan Morfometri

Karakter morfologi dan morfometri NSK C6 dari Desa Dieng, Kabupaten Banjarnegara dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 2. Sista berwarna kuning hingga kecokelatan

Tabel 1 Lokasi sebaran NSK dan jumlah sista per 100 ml tanah dan 10 g akar

Kode isolat	Desa, Kabupaten	Ketinggian (m dpl)	Jumlah sista	Suhu tanah (°C)	Kultivar	Umur tanaman (hari setelah tanam)
C1	Patak Banteng, Wonosobo	1998	100	16	Granola MZ	70
C2	Parikesit, Wonosobo	1982	82	16	Granola MZ	100
C3	Tieng, Wonosobo	1814	52	19	Granola	50
C4	Suren Gede, Wonosobo	1581	1	24	Granola MZ	70
C5	Suren Gede, Wonosobo	1650	1	23	Granola MZ	50
C6	Dieng, Banjarnegara	2047	131	15	Granola MZ	50
C7	Karang Tengah, Banjarnegara	1996	56	16	Granola MZ	60
C8	Bakal, Banjarnegara	1953	88	16	Granola MZ	50
C9	Kepakisan, Banjarnegara	1815	55	19	Granola MZ	70
C10	Pekasiran, Banjarnegara	1694	47	22	Granola MZ	50
C11	Condong Campur, Banjarnegara	1676	54	22	Granola MZ	65
C12	Ratamba, Banjarnegara	1577	31	24	Granola	65



Gambar 1 Gejala infeksi nematoda sista kentang di lapangan. a, Tanaman layu; b, Daun menguning; dan c, Sista menempel pada permukaan akar (→).

merupakan betina dengan kutikula yang mengeras dan berbentuk membulat, sedikit ellips atau bulat telur (Gambar 2a). Permukaan cangkang halus dan tidak memiliki mikrovili. Pada sista tidak ditemukan adanya vulva kerucut, vulval basin hilang dan membentuk *single circular fenestra* (Gambar 2b).

Jika sista dibelah atau dipecahkan akan terlihat telur yang berisi juvenil stadium 1 (J1) dan J2 dalam jumlah yang cukup banyak (Gambar 2c). Telur berbentuk oval dan tidak ada kantong telur (Gambar 2d).

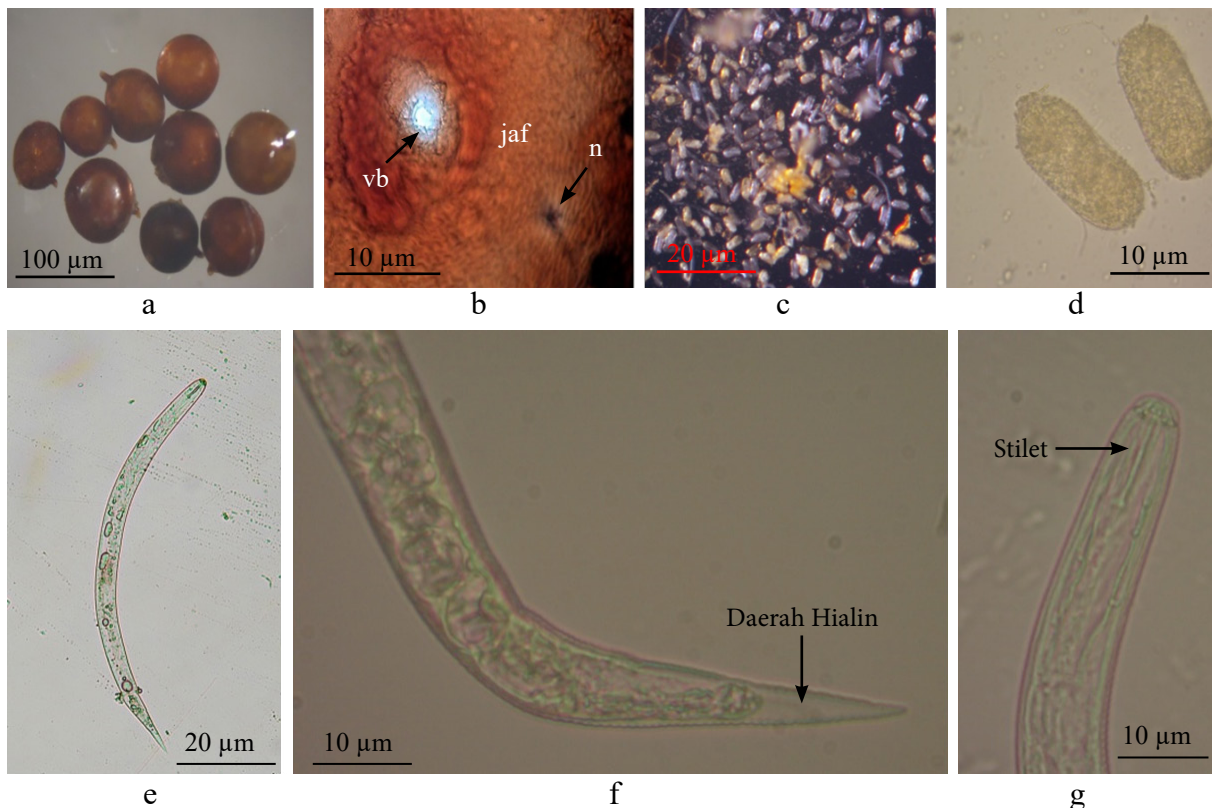
Nematoda J2 berbentuk vermiform (Gambar 2e) dengan bentuk ekor semakin ke ujung semakin mengecil dan ada ujung ekor posterior tampak hialin (Gambar 2f). Kepala sedikit *offset* (bagian kepala dengan bagian tubuh di belakang kepala dipisahkan suatu lekukan pada kutikula). Stilet tipe stomatosilet berkembang dengan baik (Gambar 2g).

Hasil pengukuran yang dilakukan terhadap isolat C6 dibandingkan dengan yang didiskripsikan oleh Stone (1973) maka

dapat dipastikan spesies NSK ini ialah *G. rostochiensis* (Tabel 2). Walaupun panjang tubuh pada juvenil stadia 2 dari populasi ini lebih panjang dari yang didiskripsikan oleh Stone (1973) tetapi populasi ini benar merupakan spesies *G. rostochiensis*. Ini juga dapat dipastikan dengan bentuk knob stilet seperti ini sama seperti yang didiskripsikan oleh Stone (1973) untuk spesies *G. rostochiensis*.

Identifikasi Spesies NSK berdasarkan Karakter Molekul

Hasil amplifikasi DNA dengan teknik PCR menggunakan primer spesifik *G. rostochiensis* PITSr3, primer spesifik *G. pallida* PITSp4 dan primer universal nematoda ITS5 (Garcia *et al.* 2009) terhadap 12 populasi NSK menghasilkan pita DNA berukuran 434 pb. Berdasarkan ukuran pita DNA tersebut sampel NSK dari Kabupaten Wonosobo (C1-C5) dan Kabupaten Banjarnegara (C6-C12) teridentifikasi sebagai *G. rostochiensis* (Gambar 3).

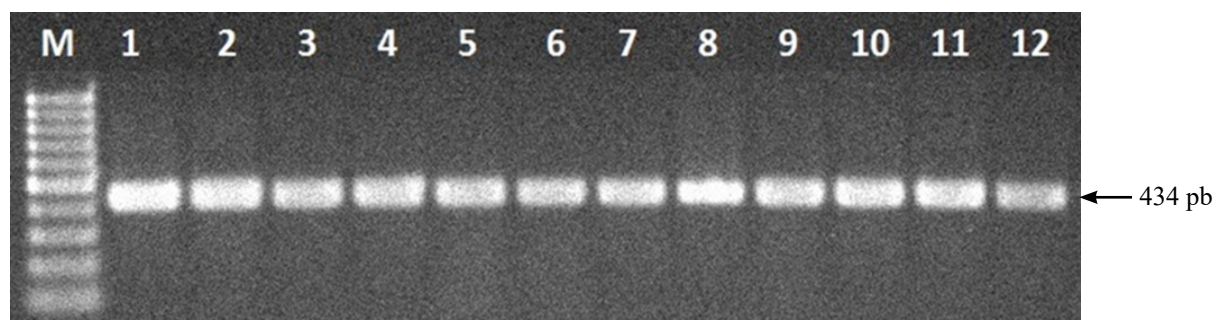


Gambar 2 Morfologi nematoda sista kentang dari Desa Dieng, Kabupaten Banjarnegara. a, Sista; b, Pola perenial dengan *single circular fenestra*; c, Juvenil stadia 1 (J1) dan telur; d, Telur; e, NSK juvenil stadia 2 (J2); f, Ekor juvenil 2 dengan daerah hialin; dan g, Kepala juvenil dan stilet. vb, vulva basin; n, anus; jaf, jarak anus-fenestra.

Tabel 2 Karakter morfometri sista, juvenil stadia dua, dan telur *Globodera rostochiensis*

Karakter	Sista	Juvenil 2	Telur
Panjang Tubuh (μm)	-	548.0	-
Lebar tubuh (μm)	-	24.5	-
Panjang Ekor (μm)	-	57.4	-
Panjang Stilet (μm)	-	25.2	-
Diameter fenestra (μm)	17.0	-	-
Jarak (anus – vulva) (μm)	61.5	-	-
Rasio granek	3.62	-	-
Bentuk tonjolan stilet	-	Bulat	-
Lebar kepala (μm)	-	4.4	-
Panjang (μm)	-	-	103.0
Lebar (μm)	-	-	47.0
Rasio panjang/lebar	-	-	2.2

Ket: Rata-rata dari sista (n=25); J2 (n=50); betina (n=25); jantan (n=50); dan telur (n= 50)



Gambar 3 Hasil amplifikasi DNA nematoda sista kentang (NSK) dengan PCR menggunakan primer spesifik spesies untuk *Globodera rostochiensis* PITSr3, primer spesifik *G. pallida* PITSp4, dan primer universal nematoda ITS5. 1-5, NSK isolat C1, C2, C3, C4 dan C5 (Wonosobo); 6-12, NSK isolat C6, C7, C8, C9, C10, C11 dan C12 (Banjarnegara); dan M, Penanda DNA 100 pb ladder (Invitrogen).

PEMBAHASAN

Kehadiran NSK di sentra pertanian kentang di Jawa Tengah diduga telah ada dalam waktu yang lama. Suwardiwijaya *et al.* (2007) melaporkan sejak tahun 1985 petani di Jawa Tengah telah menggunakan benih kentang impor asal Jerman. Penggunaan benih kentang impor dalam waktu yang cukup lama memungkinkan NSK terbawa benih kentang impor dan telah berkembang di sentra pertanian kentang di Jawa Tengah. Menurut Brodie (1998) NSK memerlukan waktu sekitar 7 tahun untuk dapat terdeteksi dan menyebabkan endemik di suatu daerah.

Keberadaan NSK di sentra-sentra pertanian kentang di Jawa Tengah pada penelitian ini melengkapi informasi sebelumnya. Kondisi ini dapat menjadi

ancaman serius bagi pertanian kentang lain di Indonesia. Hal ini disebabkan NSK merupakan patogen yang sulit dikendalikan. Stevenson *et al.* (2001) menyatakan, jika suatu lahan sudah terinfestasi NSK maka nematoda tersebut akan tetap ada di lahan tersebut dan tidak mungkin lahan tersebut dapat bersih dari NSK. NSK dapat bertahan di dalam tanah pada kondisi dorman tanpa inang selama 30 tahun dalam bentuk sista (Quader *et al.* 2008). Walaupun jumlah sista NSK di lokasi survei bervariasi dari rendah sampai tinggi (1-131 sista per 100 mL tanah) kondisi ini tidak menghalangi untuk terjadinya ledakan penyakit di lokasi tersebut. Oleh karena itu, untuk mencegah penyebaran NSK yang lebih luas, dibutuhkan pemantauan insidensi penyakit secara intensif pada daerah-daerah yang sudah terinfestasi maupun yang belum terinfestasi NSK.

Tingginya populasi NSK di Kabupaten Wonosobo dan Banjarnegara pada penelitian ini dapat disebabkan pola tanam yang dilakukan oleh petani kentang. Petani di daerah ini menggunakan sistem pertanaman monokultur, yaitu kentang ditanam secara terus menerus sepanjang tahun sehingga menyebabkan peningkatan populasi NSK akibat ketersediaan inang terus menerus.

Hasil survei juga menunjukkan bahwa pada lokasi sampel dengan suhu tanah antara 15–16 °C ditemukan jumlah sista lebih tinggi yaitu 56–133, sedangkan pada lokasi sampel dengan suhu tanah yang lebih tinggi (19–24 °C) jumlah sista lebih rendah (1–55). Suhu tanah berpengaruh terhadap perkembangan NSK. Suhu tanah antara 12–24 °C cocok untuk perkembangan dan reproduksi NSK, sedangkan suhu optimumnya, yaitu 15–21 °C (Lisnawita *et al.* 2010).

Pengamatan pada sista dan J2 merupakan hal yang penting, selain pengamatan pada telur, betina dan jantan. Stone (1973) dan Skantar *et al.* (2007) menggunakan daerah antara anus dan fenestra sista untuk membedakan antara *G. virginiae*, *G. tabacum*, *G. rostochiensis*, dan *G. pallida*. Karakter morfometri umumnya digunakan untuk menentukan spesies nematoda. Karakter ini dipengaruhi oleh beberapa faktor dan dapat memperlihatkan perbedaan nyata tidak hanya antar spesies tetapi juga di antara populasi dalam satu spesies (Skantar *et al.* 2007).

Selain menggunakan karakter morfologi dan morfometri, identifikasi spesies dapat dilakukan dengan teknik molekul. Pendekatan dengan teknik molekul memberikan hasil yang lebih cepat dan akurat. Hasil pengamatan 12 isolat secara molekul menggunakan primer spesifik yang didiskripsikan oleh Bulman dan Marshall (1997) serta primer universal (White *et al.* 1990) teridentifikasi sebagai *G. rostochiensis* dengan panjang pita 434 pb, sementara tidak satu pun hasil amplikasi menunjukkan fragmen DNA dari spesies *G. pallida*. Hasil yang berbeda dilaporkan oleh Lisnawita *et al.* (2012) yang berhasil mengidentifikasi *G. rostochiensis* dengan fragmen DNA berukuran 238 pb menggunakan

pasangan primer ITS-1 R dan 5,8 S rRNA (Mulholland *et al.* 1996) dan *G. pallida* dengan fragmen DNA berukuran 391 pb menggunakan pasangan primer ITS-1 P dan 5,8 S rRNA (Mulholland *et al.* 1996). Spesies *G. pallida* tidak teramplifikasi dalam penelitian ini dapat disebabkan karena suhu tanah pada waktu pengambilan sampel bukan suhu optimal untuk perkembangan spesies *G. pallida*. Suhu tanah ketika pengambilan sampel pada rentang 15–24 °C menyebabkan spesies *G. pallida* tertekan perkembangannya dan sebaliknya spesies *G. rostochiensis* mendominasi tempat tersebut. Lisnawita *et al.* (2010) melaporkan *G. pallida* berkembang dengan baik pada suhu tanah di bawah 15 °C.

Hasil penelitian ini menunjukkan penyebaran NSK pada pertanaman kentang di Kabupaten Wonosobo dan Banjarnegara, Jawa Tengah semakin meluas dengan terdeteksinya NSK pada lokasi yang belum dilaporkan pada penelitian sebelumnya. Informasi ini juga melengkapi data bahwa NSK ditemukan pada pertanaman kentang pada kisaran ketinggian 1500–2100 m dpl dengan tingkat kepadatan sista yang berbeda dan menginfeksi kentang kultivar Granola dan Granola MZ.

DAFTAR PUSTAKA

- Adili N, Melizi M, Belabbas H, Achouri A. 2014. Preliminary study of the influence of red blood cells size on the determinism of the breed in cattle. *Vet Med Int*. Article ID 429495: 1–4. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/429495>.
- Brodie BBJ. 1998. Potato cyst nematodes (*Globodera* spp.) in Central and North America. Di dalam: Marks RJ, Brodie BB, editor. *Potato Cyst Nematodes: Biology And Distribution And Control*. Wallingford (UK): CAB International. hlm 317–331.
- Bulman SR, Marshall JW. 1997. Differentiation of Australasian potato cyst nematode (PCN) populations using the polymerase chain reaction (PCR). *New Zealand J Crop Horti Sci*. 25:123–129. DOI: <https://doi.org/10.1080/01140671.1997.9513998>.

- Fleming CC, Powers TO. 1998. Potato cyst nematode diagnostics: morphology, differential hosts and biochemical techniques. Di dalam: Marks RJ, Brodie BB, editor. *Potato Cyst Nematodes, Biology, Distribution and Control*. Wallingford (UK): CAB International. hlm. 91–114.
- Fullaondo A, Barrena E, Viribay M, Barrena I, Salazar A, Ritter E. 1999. Identification of potato cyst nematode species *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* by PCR using specific primer combinations. *Nematology*. 1(2):157–163. DOI: <https://doi.org/10.1163/156854199508126>.
- Garcia D, Garcia C, Montero Z, Salazar L, Brenes A, Gomez-Alpizar L. 2009. Morphological and molecular identification of potato cyst-forming nematode *Globodera pallida* in soil samples from Costa Rica. *Revista Latinoamericana de la Papa*. 15(1):38–45.
- Indarti S, Bambang RTP, Mulyadi, Trimana B. 2004. First record of potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* in Indonesia. *Aust Plant Pathol*. 33(2):325–326. DOI: <https://doi.org/10.1071/AP04018>.
- Jatala P, Bridge J. 1990. Nematode parasites of root and tuber crops. Di dalam: Luc M, Sikora RA, Bridge J, editor. *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. Wallingford (UK): CAB International. hlm. 137–180.
- Lisnawita, Sinaga MS, Wattimena GA, Supramana, Suastika G. 2007. Identification of potato cyst nematode populations prevailing in East and Central Java, Indonesia, Based on Morphometric and Morphological Characteristics. *J ISSAAS*. 13(1):33–38.
- Lisnawita, Sinaga MS, Supramana, Suastika G. 2010. Pengaruh temperatur terhadap perkembangan nematoda sista kentang (*Globodera* Spp.) Indonesia. *JHPT Tropika*. 10(1):29–34.
- Lisnawita, Supramana, Suastika G. 2012. Identification of potato cyst nematode in Indonesia by polymerase chain reaction. (Notes). *Aust Plant Dis*. 7:133–135. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13314-012-0067-5>.
- Mulholland V, Carde L, O'Donnell KJ, Fleming CC, Powers TO. 1996. Use of the polymerase chain reaction to discriminate potato cyst nematode at the species level. Di dalam: Marshall G, editor. *Proceeding of Diagnostics in Crop Production Symposium*; 1996 Apr 1–3; Farnham (UK): British Crop Production Council. hlm 247–252.
- Nurjanah, Trisyono YA, Indarti S, Hartono S. 2016. Identification, distribution and genetic diversity of the golden potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis*) in Java Indonesia. Di dalam: *Proceedings of the 1st International Conference on Science and Technology 2015*; 2015 Nov 11–13; Yogyakarta (ID): AIP Publishing. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.4958550>.
- Quader M, Nambiar L, Cunnington J. 2008. Conventional and real-time PCR-based species identification and diversity of potato cyst nematodes (*Globodera* spp.) from Victoria, Australia. *Nematology*. 10:471–478. DOI: <https://doi.org/10.1163/156854108784513860>.
- Shepherd AM. 1985. Extraction and estimation of cyst nematodes. Di dalam: Southey JF, editor. *Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes*. London (UK): Ministry of Agriculture, Fisheries & Food. hlm 31–49.
- Skantar AM, Handoo ZA, Carta LK, Chitwood DJ. 2007. Morphological and molecular identification of *Globodera pallida* associated with potato in Idaho. *J Nematol*. 39(2):133–144. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-10-0010>.
- Stone AR. 1973. *CIH Descriptions of Plant-Parasitic Nematodes No 16. Globodera rostochiensis*. Wallingford (UK): CAB International.
- Subbotin SA, Vierstraete A, Deley P, Rowe J, Waeyenberge L, Moens M, Vanfleteren JR. 2001. Phylogenetic relationships within the cyst-forming nematodes (Nematoda, Heteroderidae) based on analysis of sequences from the ITS region of ribosomal DNA. *Mol Phylogen Evol*. 21:1–16. DOI: <https://doi.org/10.1006/mpev.2001.0998>.

- Suwardiwijaya E, Raga IN, Harsono L. 2007. Penyebaran vertikal dan horizontal sista *Globodera* sp. di sentra pertanaman kentang di Pegunungan Dieng, Provinsi Jawa Tengah. Makalah pada Pertemuan Koordinasi Kelompok Kerja Penanganan NSK. Bandung, 2-4 Mei 2007.
- Stevenson WR, Rosemary L, Gary DF, Weingartner DP. 2001. *Compendium of Potato Disease 2nd* Edition. APS Pr.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Di dalam: Innes MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, editor. *PCR protocols: A guide to methods and applications*. San Diego (US): Academic Pr. hlm 315–322. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>.